Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig

Unspezifische Steigerung der Phagozytoseaktivität von Peritonealmakrophagen nach oraler Gabe verschiedener Hefepräparationen

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Christian Schmidt
aus Berlin

1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549607_0014

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig

Unspezifische Steigerung der Phagozytoseaktivität von Peritonealmakrophagen nach oraler Gabe verschiedener Hefepräparationen

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Christian Schmidt
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig

Korrefferent: Professor Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 15.11.1977

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	5
MATERIAL UND METHODEN	16
1. Versuchstiere	16
2. Antigene und ihre Gewinnung	16
3. Immunisierung	18
4. Kulturmedium	18
5. Zellgewinnung	19
6. Versuchsansatz	19
7. Auswertung der Versuche	20
DIE VERSUCHE UND IHRE ERGEBNISSE	21
1. Versuchsgruppen	21
2. Statistische Sicherung	22
DISKUSSION	36
ZUSAMMENFASSUNG	41
LITERATURVERZEICHNIS	42

EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

Neben ihrer weltweiten Verwendung bei Gär- und Fermentationsprozessen konnte Hefe auch in der Medizin eine gewisse Bedeutung erlangen:

Schon Jahrhunderte vor der Zeitrechnung kannten die Ägypter den therapeutischen Wert der Hefe. Hippokrates (etwa 460 bis 377 v. Chr.) benutzte sie als Heilmittel, und auch bei uns findet sie seit langer Zeit in der Volksheilkunde Verwendung, so z.B. bei Tuberkulose, Diabetes mellitus, Gastroenteritis und Hauterkrankungen. So ist bekannt, daß es in vielen biererzeugenden Ländern, wie z.B. in Bayern, von alters her üblich war, bei Furunkulosen und anderen Hautkrankheiten einen Krug Hefe oder Jungbier aus der Brauerei zu holen. Man schrieb die Erfolge, die man damit erzielte, der Gärkraft, den Fermenten, zu (31, 34).

SCHÜLEIN (34) gibt eine Zusammenfassung des Wissenstandes von 1935. Dank zunehmender Erkenntnisse auf den Gebieten Ernährungsphysiologie und Vitaminforschung führt er die Wirkung gerade von untergäriger Bierhefe, die er der obergärigen und den Bäckerhefen für überlegen hält, auf ihren hohen Gehalt an Vitaminen der B-Gruppe zurück. In Erwähnung einer Vielzahl wissenschaftlicher Arbeiten beschreibt er gute therapeutische Wirkungen bei Magen-Darmerkrankungen, Hautkrankheiten, Entzündungen und Wunden, Infektionskrankheiten und malignen Tumoren. Ähnliche Angaben finden sich auch in DIE HEFEN von 1964 (31).

In der chemischen Zusammensetzung unterscheiden sich Bier-, Back- und Wuchshefe kaum. Beachtlich ist nur der wesentlich höhere Thiamingehalt der Bierhefe.

Durchschnittliche Zusammensetzung der Hefetrockensubstanz:

Rohprotein	45 - 60 %
Gesamt-Kohlenhydrate	25 - 35 %
Rohlipide	4 - 7 %
Asche	6 - 9 %

Vitamingehalt (mg in 100 g HTS)

Thiamin	2,5 - 6,3 mg	(Bierhefe 20)
Riboflavin	4,3 - 6,4 mg	
Nikotinsäure(-amid)	32,7 - 53,7 mg	
Pyridoxin	1,6 - 5,6 mg	
Pantothensäure	6,9 - 12,9 mg	
p-Aminobenzoesäure	1,6 - 17,5 mg	
Folsäure und Derivate	1,9 - 8,0 mg	
Biotin	0,06 - 0,18 mg	
Meso-Inosit	432 mg	
Cholin	510 mg	

Es fehlen die Vitamine A, D, E, K, Cobalamin und Ascorbinsäure. Von weiteren Bestandteilen ist besonders das Glutathion zu erwähnen, dem eine Bedeutung bei der Regulierung des Redoxpotentials und der Aktivierung fermentativer Vorgänge in den Geweben zugesprochen wird.

Der Proteinanteil ist wegen seines hohen Gehaltes an essentiellen Aminosäuren biologisch hochwertig und zu 90 % verdaulich (4). Allerdings wird die Verfügbarkeit der Hefeinhaltstoffe für den Organismus wesentlich durch die Aufbereitung beeinflußt. So ist bekannt, daß frische Hefen in der Ausnutzung allen Nährstoffe wesentlich schlechter zu beurteilen sind als abgetötete Hefen, deren Zellwände durch die Verdauungssäfte besser angreifbar und die Zellinhaltstoffe besser verwertbar sind (31).

Besonders in Krisenzeiten und bei Mangel- und Unterernährung wurde Hefe als wertvoller Nahrungszusatz immer wieder empfohlen. Man soll sie in getrockneter Form (Nährhefe) direkt zu sich nehmen oder dem Essen beimischen, am besten mehrmals täglich 2-3 Gramm (31, 34).

Eine große Zahl von Arbeiten beschreibt die gute prophylaktische und therapeutische Wirkung eines solchen Nahrungszusatzes (Übersicht in 31, 34). Zum Beispiel konnten BAUMANN und DESCHWANDEN feststellen, daß die Lehrgangsteilnehmer einer Militärschule, denen 5-10 g Hefe/die verabreicht worden war, nach Abschluß des Lehrganges in besserer gesundheitlicher Verfassung waren als die Soldaten des Kontrollehrganges (34).

GERVAIS berichtet aus Biafra von seinen Erfahrungen bei der Behandlung unterernährter Kinder, die alle Zeichen des Kwashiokor aufwiesen. Bei sonst gleicher Ernährung erhielt eine Versuchsgruppe 5 g/kg Körpergewicht/die einer Nährhefe als Ersatz für Fisch, Fleisch, Eier und Milch. Bei diesen Kindern bildeten sich die Ödeme schneller zurück, Erbrechen und Diarrhoe traten seltener auf und ihr allgemeiner Gesundheitszustand besserte sich nachhaltiger als bei den Kindern der Kontrollgruppe (12).

Ein solcher Therapieerfolg setzt die Verabreichung größerer Mengen von Hefe voraus, da dabei vornehmlich das Ziel verfolgt wird, Mangelzustände zu beseitigen. Aus dem Angebot an wertvollen Zellinhaltstoffen zieht der Makroorganismus direkten Nutzen.

Untauglich erweist sich diese Vorstellung bei dem neuen Hefepräparat Perenterol ^{R} (Pharmacodex GmbH). Eine Gelatinekapsel enthält lyophilisiert 1 x 10^{9} lebende Keime von Saccharomyces cerevisiae Hansen CBS 5926, das entspricht 50 mg. Bei einer Gabe von 3 x 2 Kps./die zeichnet der Hersteller folgenden Indikationsbereich:
Akute und chronische Diarrhoe, Enterokolitis, Dysbakterie des Darmes bei Antibiotika- und Chemotherapie, Akne.

ORTLIEB untersucht das Problem der Durchfallerkrankungen beim Kleinkind nach Gabe von Breitbandantibiotika und auch der sogenannten banalen Diarrhoe. In einer randomisierten Vergleichsprüfung weist er nach, daß nach einer Standardbehandlung in der Kontrollgruppe Nebenwirkungen der Antibiotikatherapie wie Diarrhoe, Wundsein und Soordermatiden im Anogenitalbereich um 87,7 % häufiger auftraten als in der Experimentalgruppe, die zusätzlich Perenterol erhalten hatte. Auch Durchfälle bei unspezifischer Enteritis gingen unter der Standardbehandlung nicht so gleichmäßig und einheitlich zurück wie unter der Behandlung mit Perenterol. Die Verträglichkeit war gut, sichere Nebenwirkungen wie Erbrechen oder allergische Hauteffloreszenzen konnten bei keinem Kind festgestellt werden (23).

GÖTZ unternahm mit gutem Erfolg einen Behandlungsversuch mit Perenterol bei sieben Patienten, die zum Teil schwer an Colitis ulcerosa erkrankt waren, und bei denen eine Kontrindikation für den Einsatz von Sulfonamiden, Antibiotika, Kortikoiden und Zytostatika vorlag. Auch bei dieser Darmerkrankung ist die Sanierung der Darmflora und die Herstellung physiologischer Verhältnisse (Eubakterie) eine Conditio sine qua non zur Erzielung einer Heilung bzw. Besserung. In Anlehnung an CHRISTMANN (5), DONAT (6) und WELSCH (42) und aus seinen eigenen guten Erfahrungen hält der Autor diese Hefe dafür in hohem Maß geeignet. Wegen des völligen Freiseins von Nebenwirkungen erwies sich auch eine Langzeitbehandlung als problemlos (13).

Auch bei der Behandlung der Akne mit diesem Präparat

konnte ein guter Erfolg beschrieben werden. MANDRELLA verabreichte das Medikament Patienten, die zum großen Teil mehr als fünf, einige mehr als zehn Jahre lang an therapieresistenter Akne gelitten hatten. Während der bis zu sechs Monaten und länger dauernden Behandlung stellte sich heraus, daß Frauen insgesamt besser auf die Therapie ansprachen als Männer, wobei die Dauer der Akne-Erkrankung vor Behandlungsbeginn mit Perenterol ohne Einfluß auf den Therapieerfolg zu sein schien. Es zeigt sich in 35,6 % ein sehr gutes Behandlungsergebnis, in 53,6 % ein gutes und nur in 10,8 % ein mittelmäßiges, ohne daß ein Therapieversager auftrat. Bei 89,2 % (Gruppen sehr gut und gut) bildeten sich die Hauterscheinungen völlig zurück (22).

Es muß zweifelhaft erscheinen, ob die von GEDEK (11) in ihrer Arbeit "Zur Wirkung des Hefepräparates Perenterol" beschriebene florastabilisierende Wirkung, das Herstellen eines biologischen Gleichgewichts zwischen den obligaten Keimen der Darmflora, allein ausreicht, die guten therapeutischen Wirkungen dieses Medikamentes zu erklären. So vermutet GEDEK, daß möglicherweise in der Hefezelle vorkommende antibiotische Stoffe, die durch die Mikroorganismentätigkeit im Darm freigestzt werden, an diesem Effekt ihren Anteil haben, so wie auch anzunehmen ist, daß die anderen Zellinhaltsstoffe (Vitamine, Enzyme, Aminosäuren und in ihrer Struktur noch nicht völlig aufgeklärte Wirkstoffe) der Hefezelle, die als Biokatalysatoren aktiv sein können, als solche auch die Stoffwechselvorgänge des Makroorganismus positiv beeinflussen. Die bisherigen Behandlungserfolge mit Perenterol sprechen jedenfalls für eine solche zusätzliche Wirkung.

In der Tat gibt es experimentelle Arbeiten, die sich mit der Wirkung von Zellinhaltstoffen der Hefe auseinandersetzen.

Geleitet von der Vorstellung, daß zwischen Tumorentstehung und Ernährungszustand des Individuums ein Zusammenhang bestehen könnte, gaben IRESON et al. weißen Mäusen zusätzlich zur Nahrung einen Hefeextrakt, ein Plasmolysat der Wildhefe Candida utilis, und instillierten 14 Tage später jeder Maus intraperitoneal 30 000 Zellen des Ehrlichschen Aszites Tumors. Nach weiteren 7, bzw. 14 Tagen bestimmten sie die Anzahl der Tumorzellen in der Peritonealflüssigkeit. Diese wies im Durchschnitt 50 % weniger Tumorzellen auf als bei Kontrolltieren. Ebenso lag die Häufigkeit von haemorrhagischem Aszites signifikant niedriger.
Auch bei der soliden Form des Tumors, der subkutan gegeben worden war, fand sich bei den mit Plasmolysat behandelten Tieren eine deutlich niedrigere Zellzahl, ein kleineres Tumorgewicht, und eine geringere Anzahl von Nekrosen.
In beiden Fällen, der Aszites- und der soliden Form, reduzierte der Hefeextrakt die Wachstumsrate der Geschwulst. Nach 7 Tagen war dieser Effekt deutlicher als nach 14 Tagen, woraus die Verfasser schließen, daß die Wirkung besonders auf das Angehen des Tumors und sein frühes Wachstum ausgeprägt ist. Bei diesem Versuchsaufbau muß die Frage nach dem Wirkungsmechanismus offenbleiben. Eine direkte Wirkung des Plasmolysates auf die Tumorzelle wollen die Autoren jedoch nicht ausschließen (16).

Den Beweis hierfür erbrachten FARDON et al. in der Arbeit "Der Effekt eines Hefeextraktes auf die Mitoserate von neoplastischen und normalen Zellen in vitro".

PCO (Procytoxid), ein enteiweißter Wasser-Äthanol-Extrakt aus Bäckerhefe (Saccharomyces cerevisiae), hemmte die Mitose beim Krebs-2-carcinoma, dem Sarcoma 180 und der L-1210 leukemia in vitro. Auf der anderen Seite hatte PCO keine hemmende, in einigen Experimenten sogar steigernde Wirkung auf die Mitose von L-929 Fibroblasten, Zellen der Cornea und Knochenmarkszellen der Maus. Diese Wirkung war reversibel, nach Entfernung von PCO aus dem Kulturmedium nahmen die Zellen ihre normale Mitoseaktivität wieder auf (8).

Auch Zymosan besitzt diese Wirkung der Tumor-Repression. Der Begriff Zymosan bezieht sich auf alle rohen Zellwandpräparationen von Hefen, die im wesentlichen Protein-Carbohydrat Komplexe enthalten. Mit seiner Hilfe war es PILLEMER gelungen, Properdin aus dem Serum zu isolieren. Weitere sehr umfangreiche Forschungen schlossen sich an und führten zu einer ganzen Liste von Wirkungen, die man dem Zymosan zuschreibt: Schutz vor Strahlenschäden, Unterdrückung von Tumorwachstum, Steigerung des Widerstandes gegen Infektionen, Verhindern von Hypercholesterinämie, gesteigerte Toleranz sehr hohen Beschleunigungen gegenüber. Eine Übersicht über die große Zahl von Arbeiten, die sich mit diesen Wirkungen auseinandergesetzt haben, geben FITZPATRICK und DICARLO (9).

Es ist experimentell bewiesen, daß Zymosan ebenso wie bakterielle Produkte wie Endotoxine, Zellwände und Nukleinsäuren, die Infektabwehr des Makroorganismus unspezifisch erhöhen kann. Übersichten sind bei ERLANDSON (7) und GROSSGEBAUER (14) zu finden. Wenn bestimmte Versuchstiere mit diesen Verbindungen behandelt werden, kann sich eine erhöhte Schutzwirkung auf eine nachfolgende bakterielle oder virale Infektion entwickeln. Abhängig vom Versuchsmodell und der die

Infektabwehr steigernde Verbindung werden humorale Antikörper, Stimulierung des RES, bakterizide Serumfaktoren, interferonähnliche Verbindungen und insbesondere lokale Prozesse, die die Phagozytose durch die Leukozyten erhöhen, als ursächliche Wirkungsfaktoren angenommen (15, 37).

Dies gilt für die spezielle Zellwandpräparation von Hefen. Es gibt aber keine vergleichbaren grundsätzlichen Studien darüber, ob und in welchem Maß Hefe auch bei anderen Anwendungsformen, insbesondere bei der oralen Gabe, das Immunsystem zu beeinflussen und die Abwehrlage des Organismus unspezifisch zu verbessern vermag.

Im Zusammenhang mit dieser Frage ist nur eine Arbeit bekannt. SINAI et al. prüfen die Erhöhung der Abwehr gegenüber Infektionen nach oraler Anwendung von Brauereihefe bei Laboratoriumstieren. Sie konnten zeigen, daß ein signifikanter Anstieg der Abwehr gegenüber respiratorischen und enteritischen Infektionen bei Rhesusaffen nachweisbar ist. Ähnlich konnte eine Verbesserung der Abwehr gegenüber experimentellen, chronischen Infektionen bei Mäusen beobachtet werden. Eine Periode von zwei Wochen liegt zwischen dem Beginn der Hefebehandlung und der Ausbildung der erhöhten Abwehrlage. Die Untersuchungen des Mechanismus der Hefe-induzierten Erhöhung der Abwehrlage führen zu dem Schluß, daß diese auf einer Stimulierung der Phagozytose beruht, gemessen an der Clearance von Testkeimen aus dem Peritonealraum. Da bei den mit Hefe behandelten Tieren die Menge der phagozytierenden Zellen in der Peritonealhöhle nur geringfügig, die Clearance aber bis zu achtfach erhöht war, vermuten die Verfasser, es könne sich um eine Aktivierung des einzelnen Makrophagen handeln. Auf die zirkulierenden Antikörper zeigt die Brauereihefe keine Wirkung (38).

An den Makrophagen des Organismus besteht großes wissenschaftliches und praktisches Interesse.
Sie bilden ein zelluläres Abwehrsystem gegen eine hohe Zahl pathogener Mikroben und wahrscheinlich auch gegen Tumorzellen.
Der mononukleäre Phagozyt zirkuliert nach Verlassen des Knochenmarks als Monozyt mit einer Halbwertzeit von 22 Stunden in der Blutbahn. Dann tritt er ins extravasale Gewebe über, dort erfolgt seine Differenzierung zum gewebsständigen Makrophagen. Je nach Umgebung präsentiert er sich als Histiozyt, Kupffersche Sternzelle, Peritonealmakrophage, etc.
Alle diese Formen werden als mononukleär-phagozytäres System zusammengefaßt (19).
Erst bei seiner extravasalen Differenzierung erwirbt der mononukleäre Phagozyt immunologische Kompetenzen, was man heute als "Aktivierung" bezeichnet. Dieser Zustand läßt sich an morphologischen, funktionellen und biochemischen Kriterien messen (19, 21).
Morphologisch weisen aktivierte Makrophagen einen vergrößerten Zelldurchmesser - verbunden mit einem größeren Zellvolumen - auf. Zahl und Größe der lysosomalen Granula nehmen zu. Ihre Haftung auf inerten Oberflächen wird stärker, die Zellen flachen ab unter Spreizung und Ausläuferbildung des Zytoplasmas.
Funktionell weisen aktivierte Makrophagen eine vermehrte Endozytosefähigkeit auf, die sich sowohl auf die Aufnahmerate wie auch auf die absolute Zahl der aufgenommenen Partikel erstreckt. Diese Steigerung korreliert mit einer vermehrten Ausprägung von vorhandenen Membranrezeptoren für Opsonine und mit dem Auftreten neuer Rezeptoraktivitäten. Auch die sekretorische Leistung ist gesteigert. Plasminogen-Aktivator

und Komplementkomponenten (C2, C4) werden vermehrt gebildet. Bei den biochemischen Leistungen imponiert der aktivierte Makrophage durch einen gesteigerten respiratorischen Quotienten, erhöhte H_2O_2 Produktion und eine quantitativ vermehrte Ausstattung mit lysosomalen Enzymen (19).
Die intrazelluläre Abtötungsleistung gegenüber fakultativ intrazellulären Bakterien ist gesteigert. Die erhöhte Abtötungsfähigkeit ist unspezifisch ausgeprägt, d.h. unabhängig vom auslösenden Stimulus: Einmal aktiviert, vermag der Makrophage auch serologisch nicht verwandte Erreger mit größerer Effizienz abzutöten, so beispielsweise Viren, Pilze, einzellige Parasiten und sogar Tumorzellen (1, 19, 21, 41).
Der eigentliche Mechanismus der Makrophagen-Aktivierung ist noch nicht vollständig geklärt (21) und ist sicher nicht von einheitlicher Natur. Vielfach erfolgt die Wirkung humoraler oder auch zellulärer spezifischer Abwehrmechanismen indirekt über eine Steigerung der Phagozytosevorgänge (41), wobei T - Zellen eine koordinierende Funktion ausüben und mit ihren Mediatorsubstanzen, sogenannte Lymphokine, die Funktion der Makrophagen bestimmen. Ebenso verbessern spezifische und unspezifische Opsonine, wie auch die Aktivierung von C3, die Phagozytoseleistung (41). Die Beteiligung humoraler Mechanismen ist keineswegs zwingend, wie die Steigerung der Phagozytoserate nach Anwendung von resistenzsteigernden Präparaten (3), Lysozym und Aristolochiasäure (15) zeigt. RAETTIG konnte nachweisen, daß die lokale Immunisierung durch orale Aufnahme nichtvermehrungsfähiger Mikroorganismen sowohl die Peritoneal- als auch die Alveolarmakrophagen unspezifisch zu signifikant erhöhter Phagozytoseaktivität stimuliert (27).

Sein Mitarbeiter SCHULZE hatte eine gut reproduzierbare Methode entwickelt, um die Aktivität von Peritonealmakrophagen der Maus in vitro bestimmen zu können. Eine ausführliche Beschreibung findet sich dort (35).

Meine Aufgabe sollte es sein, mit Hilfe dieses Verfahrens direkt in vitro zu prüfen, ob eine orale Anwendung von Hefe tatsächlich zu einer gesteigerten Phagozytoseaktivität der Peritonealmakrophagen der Maus führt.

Da sich, wie aus der Einleitung zu entnehmen ist, keinerlei Hinweis darauf fand, in welcher Aufbereitungsform eine orale Verabreichung von Hefe erfolgsversprechend sein könnte, entschloß ich mich, sowohl Hefeextrakte nach unterschiedlichem Herstellungsverfahren als auch ganze vitale und auch inaktivierte Zellen von Brauerei- und Bäckerhefe zu verwenden.

MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere

Für alle Versuche wurden junge, durchschnittlich 17 g schwere, weiße NMRI-(Naval Medical Research Insitut)-Mäuse beiderlei Geschlechts aus der Zucht des Bundesgesundheitsamtes verwendet. Sie lebten in Kunststoffkäfigen zu je 25 Tieren. 50 von ihnen bildeten eine Versuchsgruppe, wobei deren Zusammensetzung nur dem Zufall entsprach. Der Ernährung dienten Altromin Trockenfutter und Leitungswasser ad libitum.

2. Antigene und deren Gewinnung

a) Hefeextrakte

Die Firma Hefa-Frenon Arzneimittel GmbH & Co.KG stellte zwei verschiedene Hefeextrakte zur Verfügung, beide in Ampullen steril abgefüllt:

Hefeautolysat Chargen Nr. HF - V6/001
Hefeplasmolysat Chargen Nr. HF - V6/002

Zur Herstellung der Extrakte macht die Firma folgende Angaben:

Autolysat wird unter Zusatz von Glykokoll bei erhöhter Raumtemperatur, Plasmolysat unter Sorbitzusatz bei höherer Temperatur gewonnen.

Autolysat: 1g entspricht 0,10g Frischhefe
Plasmolysat: 1g entspricht 1,22g Frischhefe

Bei der Frischhefe handelt es sich um eine Backhefe, Saccharomyces cerevisiae, Stamm NG 210 mit einem Feststoffgehalt von 30 %.

b) Bäckerhefe

Den Impfstoff stellte ich aus handelsüblicher Bäckerhefe her:

1 g Preßhefe in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung

suspendiert ergab eine Keimzahl von 7 x 10^8/ml. 100 ml dieses Impfstoffes wurden entsprechend dem Tagesbedarf für die Immunisierung in Einzelflaschen steril abgefüllt. Desgleichen weitere 100 ml, nachdem sie zuvor 3 Minuten lang bei 100° Celsius inaktiviert worden waren. Die Bestimmung der Keimzahl wie auch die Vitalfärbung mit Methylenblau wurden in der Zählkammer nach Thoma kontrolliert: Der Lebendimpfstoff wies einen Anteil von weniger als 0,5 % inaktiver Hefezellen auf und entsprach damit den Anforderungen, die an eine frische, gärfähige Preßhefe gestellt werden (31). Die Zellen des Totimpfstoffes waren voll inaktiviert.
Die Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank bei 4° Celsius. Bei der Einstellung der Keimzahl und der Technik der Inaktivierung bezog ich mich auf von RAETTIG und Mitarbeitern bei der oralen Immunisierung gemachten Erfahrungen (26).

c) Bierhefe
Die Bierhefe stellte mir das Biologische Labor im Institut für Gärungsgewerbe und Biotechnologie in Berlin zur Verfügung. Es handelt sich um eine untergärige Brauereihefe vom Stamm RH. Mikrobiologisch ist diese Hefe nicht näher definiert.
Die für den Versuch nötige Menge wurde mir frisch angezüchtet übergeben. Um sie von der Kulturlösung und den darin enthaltenen Bitter- und sonstigen Stoffen zu befreien, mußte die Hefe gründlich gewaschen werden. Dazu schien es mir nötig, sie insgesamt 6 mal in physiologischer Kochsalzlösung zu suspendieren und jeweils bei 2000 U/min 10 min lang zu zentifugieren bis der Überstand klar war. Die inzwischen etwas klumpig gewordene Suspension konnte durch eine 20 sec lange Ultraschallbehandlung wieder homogenisiert werden. Diese etwas rauhe Methode hatte zur Folge, daß der Anteil der toten, nicht mehr gärfähigen Zellen auf

20 % stieg. Hierzu siehe Abb.2. Die dunkleren Zellen erscheinen bei der Vitalfärbung tiefblau. Analog zur Bäckerhefe wurden nun die Keimzahl der Suspension eingestellt auf 7 x 10^8/ml, die Hälfte der Versuchsmenge inaktiviert 10 min bei 100° Celsius, Einzelmengen steril abgefüllt und bei 4° Celsius im Kühlschrank aufbewahrt.

3. Immunisierung

Die Versuchstiere erhielten an 10 Tagen (2 x 5 Tage mit 2 Tagen Unterbrechung) oral mit der Schlundsonde jeweils 0,25 ml des Impfstoffes, so daß jedes Tier mit insgesamt 2,5 ml immunisiert wurde und dabei 1,75 x 10^9 Hefezellen aufnahm. Für die Hefeextrakte kann ich nur überschlägig ein Keimäquivalent angeben. Wenn man unterstellt, daß die von der Firma Hefe-Frenon verwendete Backhefe mit einem Feststoffgehalt von 30 % die übliche Menge Hefezellen von 1 x 10^{10}/g enthielt (31), so ergeben sich für 2,5 ml der Hefeextrakte folgende Keimäquivalente: Autolysat 2,5 x 10^9 und Plasmolysat 3 x 10^{10}.

4. Kulturmedium

Zur Zellgewinnung und Kultivierung der Makrophagen diente Eagle-Basal-Medium mit Zusatz von Earle's-Salt der Firma Mecron. Mit dieser Trockensubstanz wurde täglich eine neue Lösung hergestellt nach folgender Vorschrift:

0,918 g Eagle-Basal-Medium + Earle's-Salt
0,2 g Natriumbicarbonat
0,01 g Kanamycinsulfat
1 ml L-Glutamin
Aqua bidest ad 100

In dieser Zusammensetzung war die Lösung auf pH 7,4 eingestellt. Vor ihrer Verwendung mußte sie noch mit Keramikfiltern steril filtriert werden.

5. Zellgewinnung

Die Mäuse wurden durch Ausbluten nach Öffnen der Karotiden getötet. Das Bauchfell mußte vorsichtig abpräpariert werden ohne eine Verletzung der Bauchdecken. Nach oberflächlicher Desinfektion mit 60 %igem Isopropanol erfolgte das Instillieren von 2 ml Eagle Medium in die freie Bauchhöhle. Nach 30 sec langer leichter Bauchmassage konnte davon etwa 1 ml wieder abgezogen werden. Diese Zellsuspension enthielt in der Regel 1×10^5 - 1×10^6 Zellen/ml.

6. Versuchsansatz

Zur Zellkultur dienten 30 ml Gewebekulturflaschen der Firma Mecron. Sie wurden mit 3 ml Eagle Medium beschickt, das durch Einleiten von Preßluft mit einem CO_2 Gehalt von 5 % äquilibriert werden mußte, um die physiologische CO_2 Spannung zu erhalten. In die so vorbereiteten Flaschen wurde 1 ml der gewonnenen Zellsuspension gefüllt. Nach 30 min bei Zimmertemperatur haften die Makrophagen so fest an der unteren Flascheninnenseite, daß dreimal mit auf pH 7,4 gepufferter NaCl Lösung gespült werden konnte, um restliche Serumbestandteile und Zellen, wie Erytrozyten, Lymphozyten [illegible]. In jede Flasche wurden nun 4 ml Kulturmedium gegeben, das zusätzlich 25 % Kälberserum enthielt, und erneut CO_2 haltige Preßluft eingeleitet. Nach 24 h bei 37° Celsius wurde den Flaschen 0,01 ml einer Suspension von inaktivierten Streptokokken mit einer Keimzahl von 1×10^8/ml zugesetzt, um den Makrophagen Gelegenheit zur Phagozytose zu bieten. Nach einer weiteren Stunde bei 37° C wurden die Kulturflaschen geleert und gewissenhaft mit physiologischer Kochsalzlösung gespült, um alle nicht phagozytierten Streptokokken zu entfernen. Der Flaschenboden

konnte mit einer Diamanttrennscheibe bequem herausgeschnitten werden. Das so entstandene Präparat wurde luftgetrocknet, 5 min in Methylalkohol fixiert und nach Giemsa gefärbt.

7. Auswertung der Versuche

Auf diese Weise entstand von jeder Maus ein Präparat, von dem 200 Zellen unter dem Mikroskop mit Ölimmersion bei 1200 facher Vergrößerung geprüft wurden, ob sie die Testkeime phagozytiert hatten oder nicht. Dabei wurde eine Zelle nur dann als positiv im Sinne der Phagozytose gewertet, wenn mindestens drei Kokken deutlich intrazellulär erkennbar waren. Siehe hierzu Abb.1. Zu der Frage, ob diese tatsächlich phagozytiert worden sind, oder ob sie der Zelle nur aufliegen, lassen sich folgende Anmerkungen machen:

1. Durch gründliches Spülen konnten alle freiliegenden Keime entfernt werden.
2. Nur phagozytierte Streptokokken liegen mikroskopisch in derselben Schärfenebene wie das Zytoplasma der Makrophagen. Siehe hierzu Abb. 3. Die im Zytoplasma verschlungene Streptokokkenkette setzt sich extrazellulär auf dem Objektträger in derselben Ebene fort.

Selbst wenn in einigen Fällen der Zelle aufliegende Keime als positiv gewertet wurden, so ist dieser Fehler in der Beurteilung gleich groß bei den Präparaten von immunisierten wie auch von Tieren der Kontrollgruppe und kann daher nicht für den gefundenen Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen von Bedeutung sein.

DIE VERSUCHE UND IHRE ERGEBNISSE

Es standen sechs Gruppen im Versuch mit je 50 Tieren, die folgendermaßen oral immunisiert wurden:

Gruppe 1: Hefeautolysat
Gruppe 2: Hefeplasmolysat
Gruppe 3: Bäckerhefe aktiv
Gruppe 4: Bäckerhefe inaktiv
Gruppe 5: Brauereihefe aktiv
Gruppe 6: Brauereihefe inaktiv

Je zwei dieser Gruppen wurden in demselben Zeitraum bearbeitet und erhielten eine gemeinsame Kontrollgruppe von ebenfalls 50 Tieren.
Nach einigen Vorversuchen stand fest, daß die Phagozytoserate auch unbehandelter Tiere starken Schwankungen unterworfen war in Abhängigkeit von den äußeren Versuchsbedingungen. Dies ließ es um so sinnvoller erscheinen, an jedem Versuchstag eine eigene Kontrolle mitlaufen zu lassen.
Die Auswertung begann 14 Tage nach dem Beginn der Immunisierung, d.h. am dritten Tag nach deren Ende, und erstreckte sich über weitere 14 Tage (2 x 5 Tage). Täglich wurden also Präparate von 15 Mäusen hergestellt und 3000 Zellen daraufhin untersucht, ob sie phagozytiert hatten oder nicht. Die Ergebnisse stehen aufgelistet in Tabelle 1, 2 und 3. Die Zeile MW gibt die jeweiligen Mittelwerte an. Diese absoluten Werte erscheinen in den Abb. 4, 5 und 6. Eingetragen sind hier zusätzlich die Standardabweichungen der Mittelwerte. Da letzlich nicht die absolute Höhe der Phagozytoserate wichtig ist, sondern deren Relation zu der Rate unbehandelter Kontrolltiere, stellen die Abb. 7, 8 und 9 ausgeglichene Werte dar, den Phagozytoseindex (Phagozytoserate der Kontrollen = 100).

Zusammenfassend zeigt Abb. 10 die Mittelwerte aller Einzelergebnisse für jede Versuchsgruppe.

Die statistische Sicherung der Unterschiede zwischen immunisierten und Kontrolltieren erfolgte mit dem Dunnett - Test (t - Test, der zwei Versuchsgruppen mit einer Kontrollgruppe vergleicht). Danach sind die Ergebnisse der sechs Versuchsgruppen an folgenden Tagen signifikant:

Tage nach Immunisierung	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14
Hefeautolysat	+	-		-	+	+	+	+	-	-
Hefeplasmolysat	+	-		-	+	+	+	-	-	-
Bäckerhefe aktiv	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Bäckerhefe inaktiv	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Bierhefe aktiv	+		+	+	+	+	+		+	-
Bierhefe inaktiv	+		+	+	+	+	+		+	-
Dunnett - Test (p = 0,05)										

Es mußte hingenommen werden, daß an drei Tagen alle Präparate bakteriell verunreinigt waren und nicht ausgezählt werden konnten. Dies erklärt die Lücken in den Tabellen und Abbildungen.

Aus den Ergebnissen geht eindeutig hervor, daß in allen Versuchsgruppen die orale Immunisierung mit Hefe eine Steigerung der Phagozytose erbrachte. Sie ist am dritten Tag nach Ende der Immunisierung ausgeprägt und wird erst 10 Tage später nicht mehr nachweisbar. Ihr Ausmaß weist Unterschiede bei den einzelnen Gruppen auf.

So scheint von den Hefeextrakten Autolysat die Makrophagen geringfügig stärker zu aktivieren als Plasmolysat. Beide erreichen einen Phagozytoseindex von 200, können also gegenüber den Kontrollen die Phagozytoseleistung verdoppeln. Diese Wirkung hat auch die Bäckerhefe, wobei es ohne Bedeutung für die Phagozytosesteigerung ist, ob die Hefe vital oder inaktiviert verabreicht wurde. Das gleiche gilt sinngemäß für die Brauereihefe, jedoch führt sie zu einer erheblich stärker ausgeprägten Steigerung und kann den Phagozytoseindex nahezu verdreifachen.

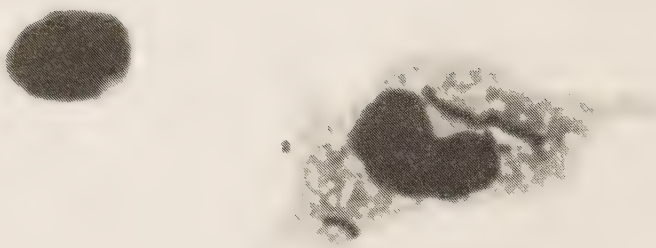

Abb. 1: Aktivierte Zelle mit phagozytierten Streptokokkenketten

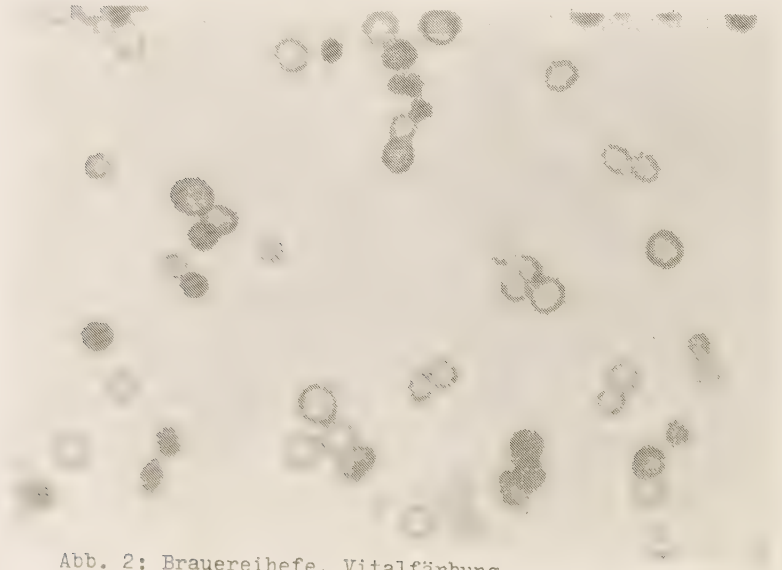

Abb. 2: Brauereihefe, Vitalfärbung

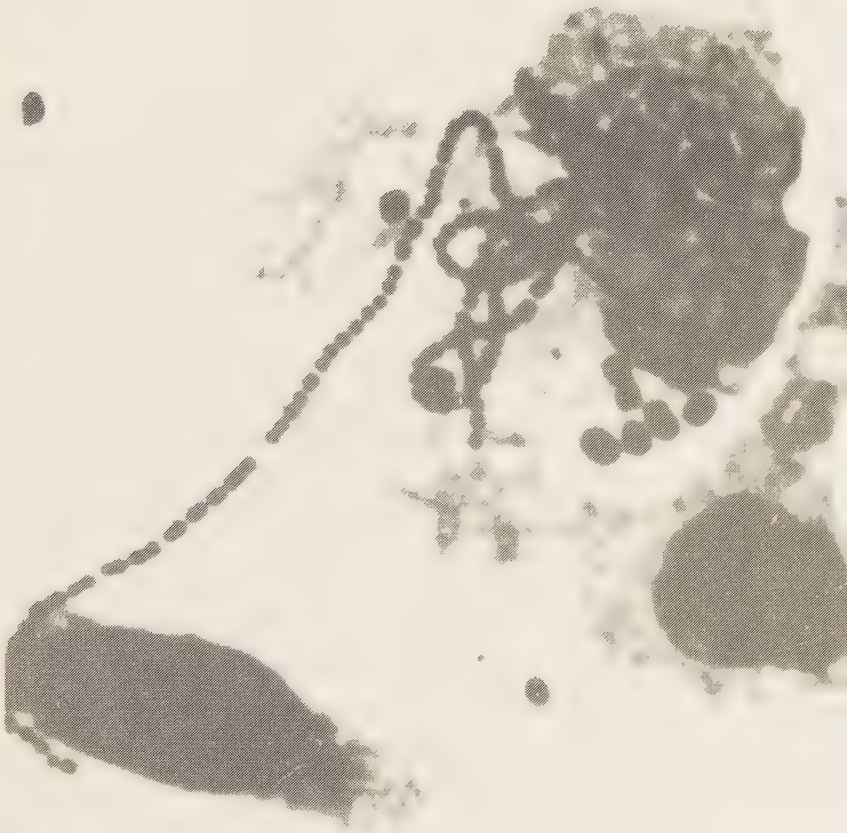

Abb. 3: Aktivierte Zelle mit phagozytierten Streptokokkenketten und anderen nicht identifizierten Partikeln

	Tier Nr.	Tage nach oraler Immunisierung									
		1	4	5	6	7	10	11	12	13	14
Hefeautolysat	1	70	114		1[illegible]	1[illegible]	[illegible]	142	148	91	145
	2	144	120		106	140	186	171	145	85	100
	3	174	144		[illegible]	150	178	183	85	82	97
	4	122	108		130	136	164	146	101	84	97
	5	118	112		180	1[illegible]	181	141	84	113	132
	MW	128	132		133	148	177	157	113	91	114
Hefeplasmolysat	1	170	102		130	165	156	150	93	131	184
	2	166	89		115	90	172	115	63	101	88
	3	158	98		117	141	186	99	110	115	76
	4	190	162		108	130	189	119	60	88	84
	5	171	144		146	1[illegible]	184	143	98	89	84
	MW	171	119		123	131	179	125	85	105	103
Kontrolle	1	78	96		98	83	93	87	58	123	56
	2	90	91		90	79	91	109	25	73	84
	3	97	111		77	84	96	92	52	88	100
	4	67	46		81	82	118	103	48	148	100
	5	81	105		116	81	127	75	67	116	93
	MW	83	90		92	81	105	93	50	110	86

Tabelle 1: Phagozytoseraten der Peritonealmakrophagen der Maus nach 10 tägiger (2 x 5 Tage) oraler Immunisierung mit Hefeautolysat und -plasmolysat. Die Zahlen entsprechen dem Anteil positiver von je 200 ausgewerteten Zellen.

	Tier Nr.	Tage nach oraler Immunisierung									
		3	4	5	6	7	10	11	12	13	14
Bäckerhefe aktiv	1	136	112	112	110	178	132	152	136	86	50
	2	190	118	136	164	181	86	196	72	86	92
	3	160	162	150	126	189	108	156	116	81	72
	4	164	164	170	128	176	141	140	95	69	38
	5	168	140	142	132	181	124	88	73	86	33
	MW	164	139	142	132	181	118	146	98	82	57
Bäckerhefe inaktiv	1	162	124	144	158	172	64	184	111	132	70
	2	163	165	136	130	188	156	186	44	92	94
	3	182	143	158	132	164	152	100	93	144	90
	4	169	157	121	128	190	156	172	47	86	46
	5	164	146	145	106	173	148	84	128	98	66
	MW	168	147	141	131	178	135	145	85	110	73
Kontrolle	1	80	115	113	86	128	56	76	56	60	36
	2	80	107	95	65	120	120	56	52	56	22
	3	101	82	85	80	90	60	76	96	42	66
	4	91	84	88	78	103	96	148	88	76	31
	5	88	97	94	76	83	68	116	68	80	76
	MW	88	97	95	77	105	80	94	72	63	46

Tabelle 2: Phagozytoserate der Peritonealmakrophagen der Maus nach 10 tägiger (2 x 5 Tage) oraler Immunisierung mit Bäckerhefe. Die Zahlen entsprechen dem Anteil positiver von je 200 ausgewerteten Zellen.

	Tier Nr.	Tage nach oraler Immunisierung									
		3	4	5	6	7	10	11	12	13	14
Brauereihefe aktiv	1	200		156	150	134	170	110		98	60
	2	194		164	174	141	142	104		86	52
	3	200		152	102	81	160	86		91	60
	4	196		148	192	96	140	123		95	58
	5	197		130	168	112	128	72		86	56
	MW	197		110	158	104	148	100		91	57
Brauereihefe inaktiv	1	200		164	198	94	130	96		68	38
	2	194		158	156	88	82	106		104	42
	3	192		172	128	103	172	82		62	104
	4	200		118	142	101	192	58		116	78
	5	196		158	148	69	144	102		87	32
	MW	196		154	166	91	144	82		87	59
Kontrolle	1	62		64	56	40	94	62		46	66
	2	81		56	64	35	70	26		46	46
	3	65		50	68	36	80	36		84	32
	4	82		60	61	40	60	44		72	47
	5	57		70	65	39	108	27		62	49
	MW	69		60	63	39	82	39		62	48

Tabelle 7: Phagozytoserate der Peritonealmakrophagen der Maus nach 10 tägiger (2 x 5 Tage) oraler Immunisierung mit Brauereihefe. Die Zahlen entsprechen dem Anteil positiver von 200 ausgewerteten Zellen.

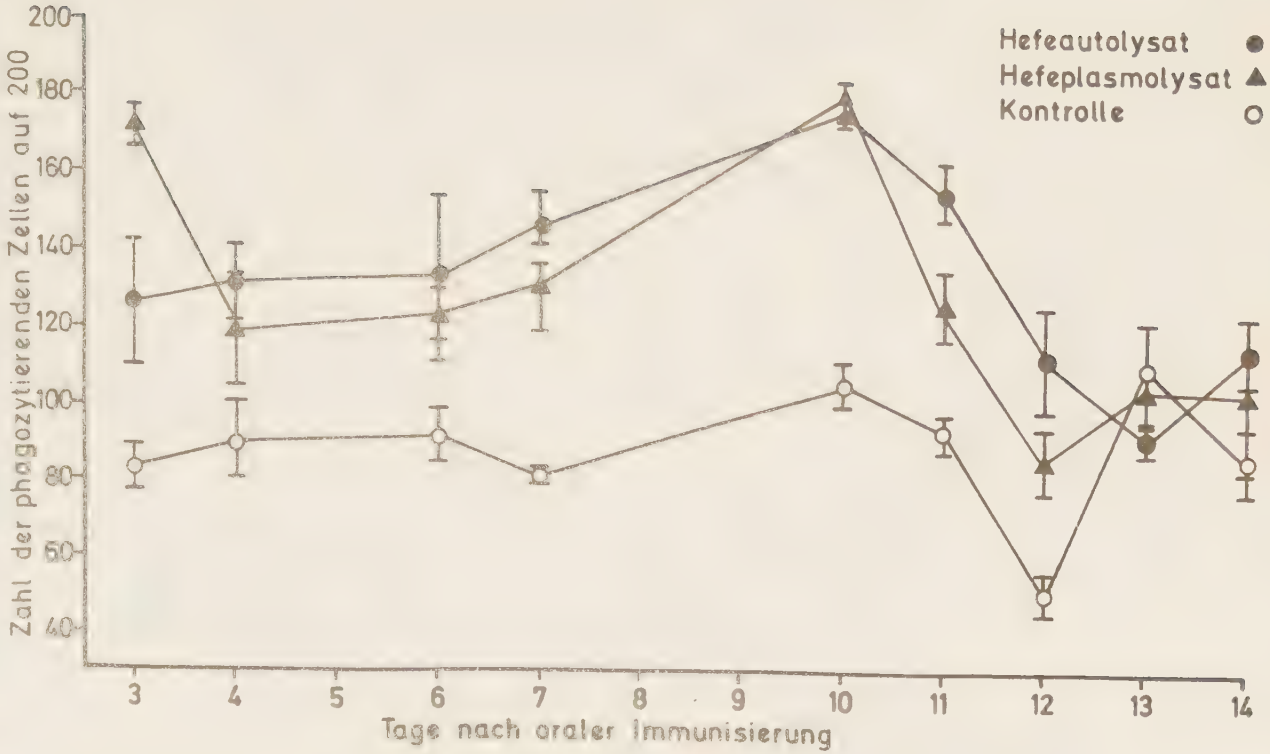

Abb. 4 : Graphische Darstellung der Tabelle Nr.1.
Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert positiver Zellen von 5 Präparaten mit je 200 gewerteten Zellen.
Eingetragen ist die Standardabweichung vom Mittelwert.

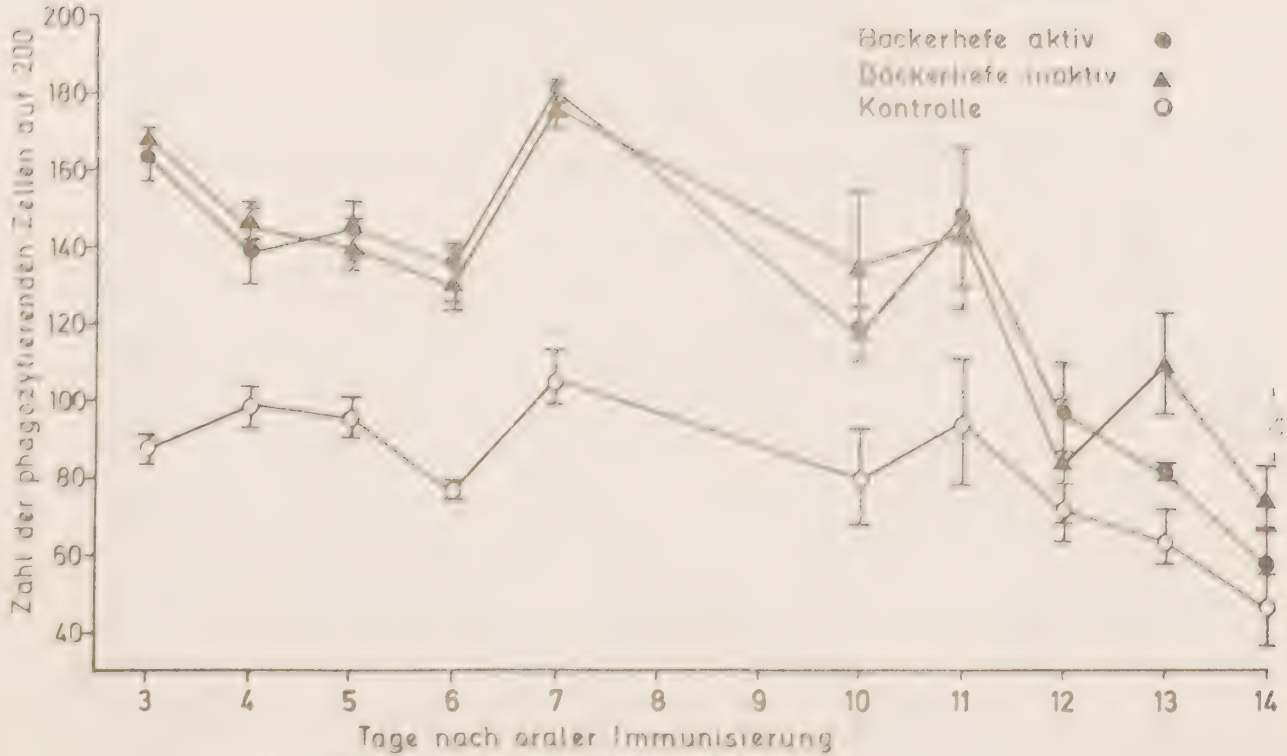

Abb. 1 : Ergebnisse Versuchsreihe der Tabelle Nr. 2.
Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert positiver Zellen
von 5 Präparaten mit je 200 gewerteten Zellen.
Eingetragen ist die Standardabweichung vom Mittelwert.

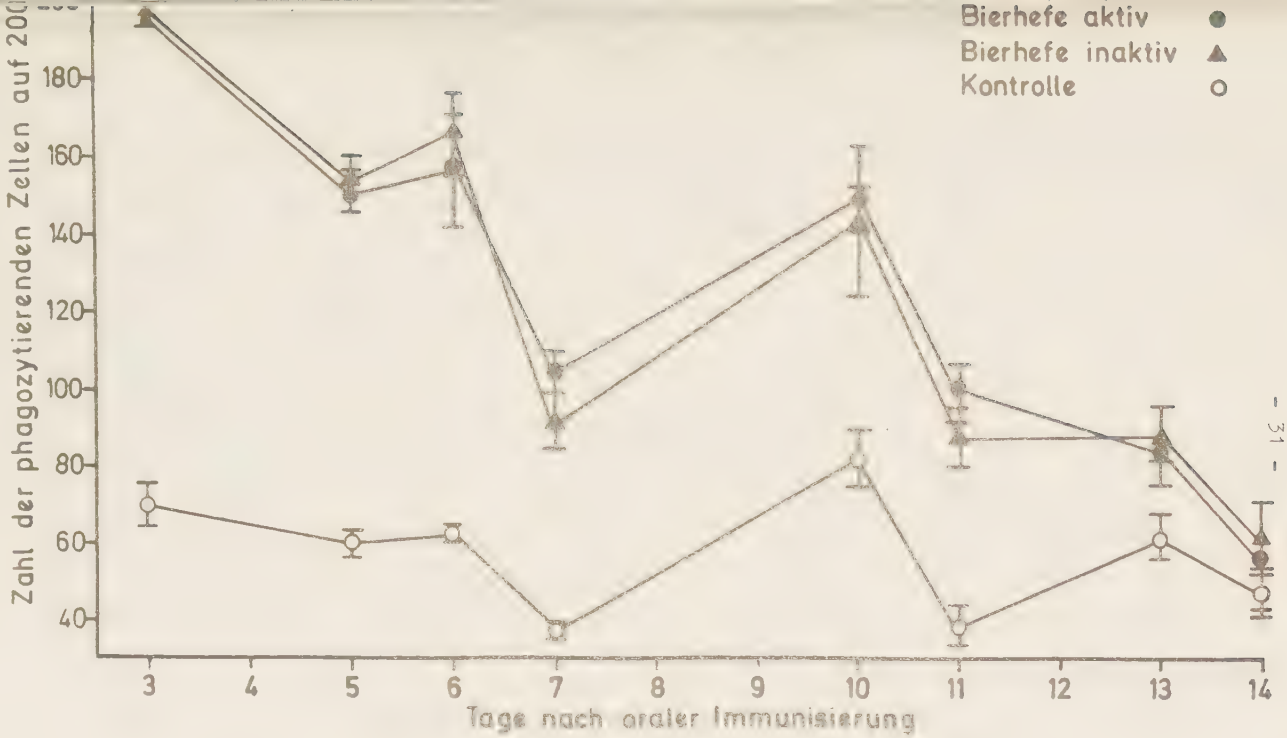

Abb. 6 : Graphische Darstellung der Tabelle Nr.3.
Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert positiver Zellen
von 5 Präparaten mit je 200 gewerteten Zellen.
Eingetragen ist die Standardabweichung vom Mittelwert.

Abb. 7 : Graphische Darstellung der Tabelle Nr.1.
Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert positiver Zellen
von 5 Präparaten mit je 200 gewerteten Zellen.

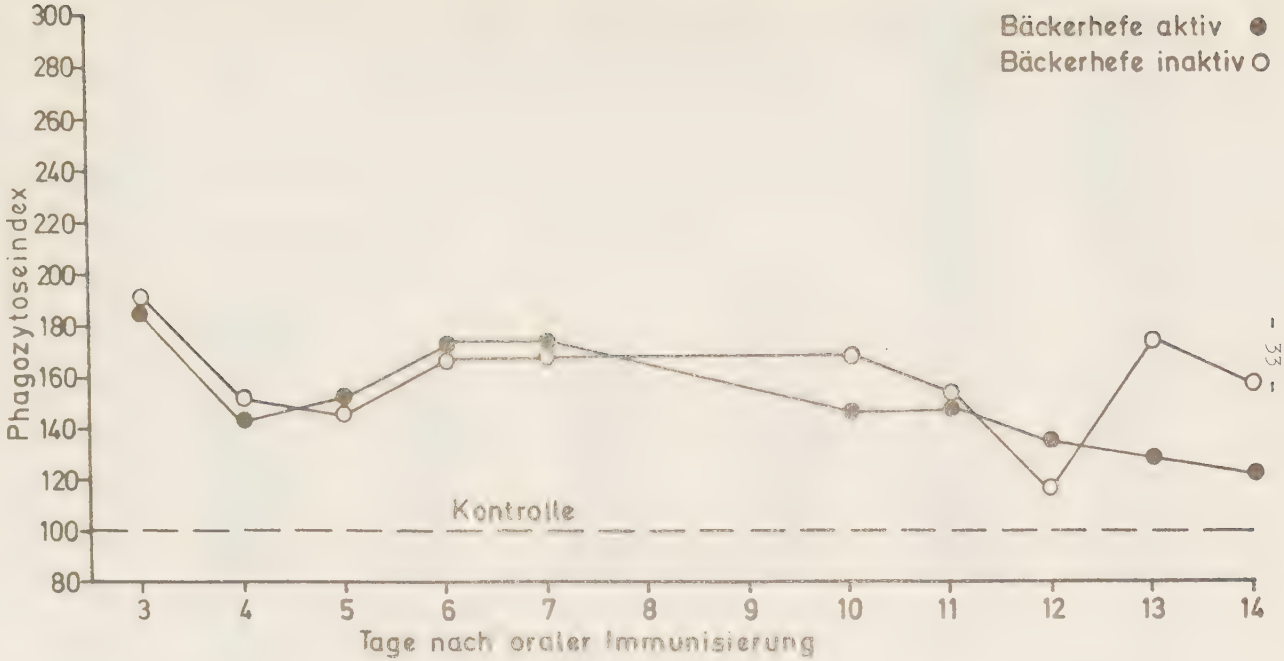

Abb. 8 : Graphische Darstellung der Tabelle Nr.2.
Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert positiver Zellen
von 5 Präparaten mit je 200 gewerteten Zellen.
Die Werte sind ausgeglichen (Phagozytoserate der Kontrollen = 100)

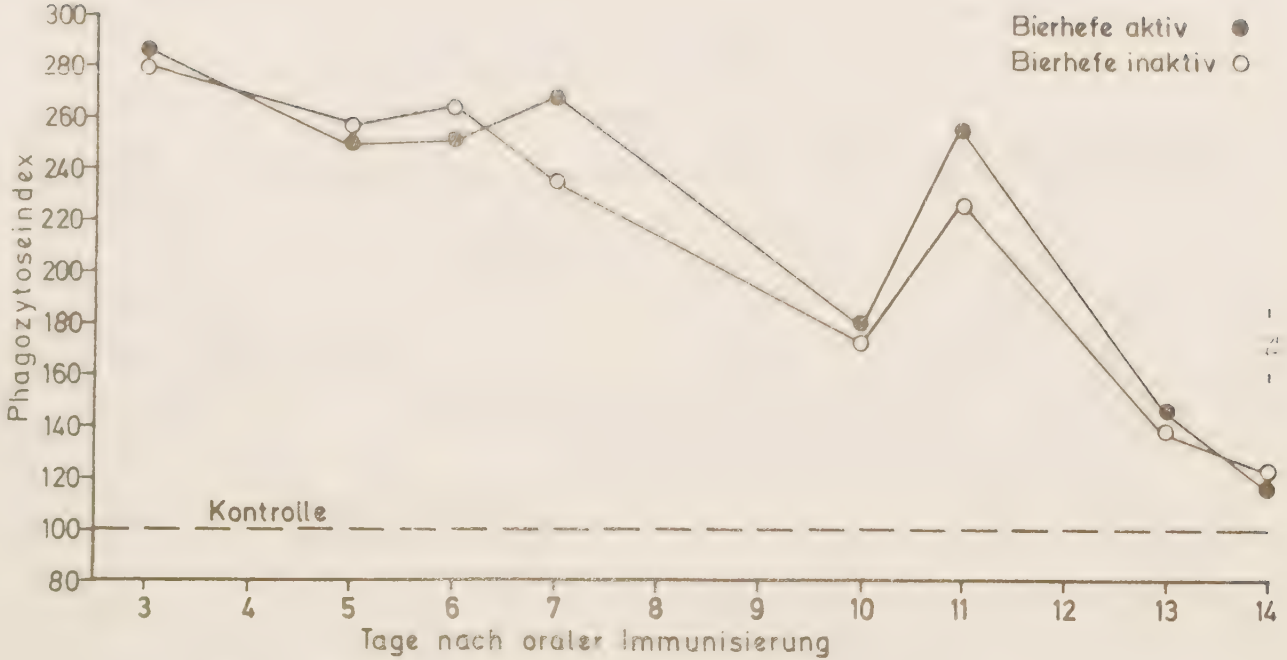

Abb. 9 : Graphische Darstellung der Tabelle Nr.3.
Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert positiver Zellen
von 5 Präparaten mit je 200 gewerteten Zellen.
Die Werte sind ausgeglichen (Phagozytoserate der Kontrollen = 100)

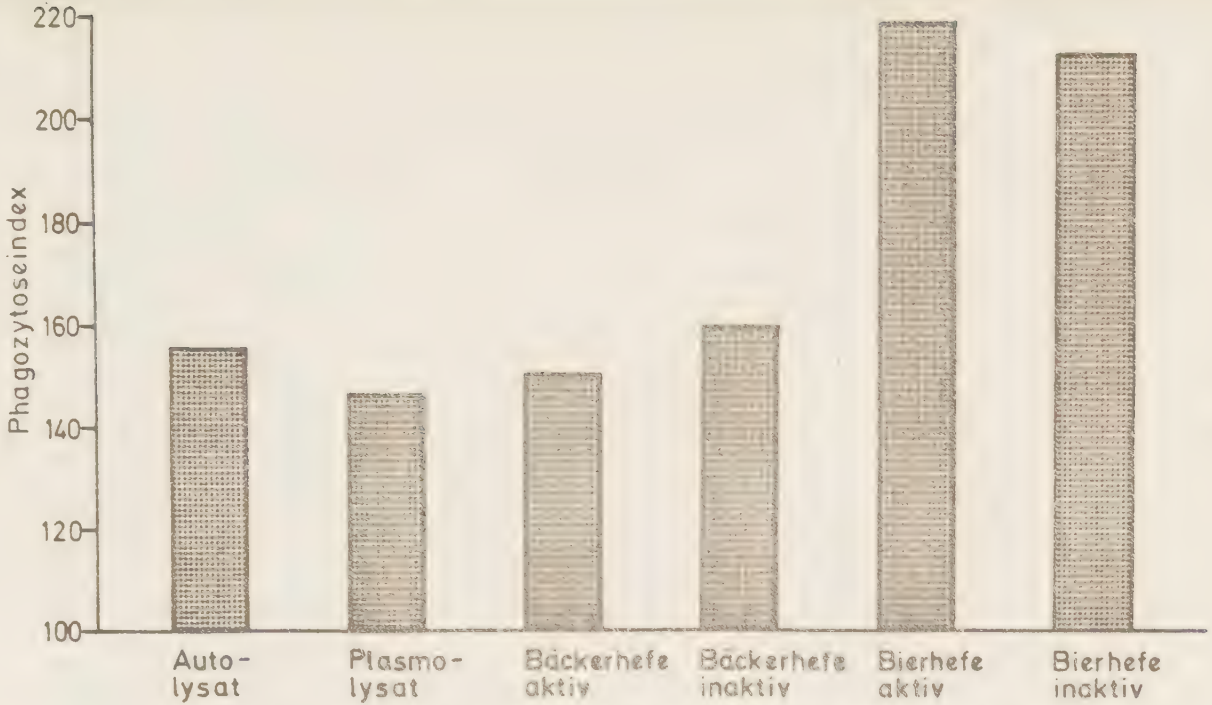

Abb. 10 : Vergleichende Darstellung der Reaktion von Peritonealmakrophagen der Maus nach Oraligen (2x5 Tage) oraler Gabe von Hefeautolysat, Hefeplasmolysat, Bäcker- und Bierhefe.
Jede Säule entspricht dem Mittelwert der Einzelergebnisse von 10 Tagen. (Ausgeglichene Werte, Kontrollen = 100)

DISKUSSION

Die dargestellten Ergebnisse zeigen, daß die geschilderte Methode geeignet ist, in hohem Maß statistisch signifikant die Fragestellung zu beantworten, ob eine orale Immunisierung mit Hefe die Peritonealmakrophagen der Maus zu aktivieren vermag. Der einzelne Makrophage wird direkt in vitro beurteilt, herausgelöst aus seinem natürlichen Integument, aber dennoch geprägt von den in vivo abgelaufenen Reaktionen. Er präsentiert sich als "aktivierter Makrophage" mit allen geschilderten morphologischen und funktionellen Zeichen. Dies bestätigt genau die Hypothese von SINAI (38), der bisher als einziger einen solchen Zusammenhang gefordert hat, nachdem er bei Laboratoriumstieren nach oraler Anwendung von Hefe eine erheblich verbesserte unspezifische Infektabwehr beobachtet hatte, und alle Untersuchungen hinsichtlich einer Beeinflussung humoraler Faktoren ohne Ergebnis geblieben waren. Der Vergleich einzelner Faktoren, das Ausmaß der Aktivierung und die Dauer der beobachteten Wirkung ist wegen des unterschiedlichen Versuchsaufbaus nicht möglich.

Es ergeben sich aber genaue Übereinstimmungen mit den von RAETTIG und Mitarbeitern bei der oralen Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen gefundenen Ergebnissen.
SCHULZE, JASCHINSKI und RAETTIG (36) beschreiben die Zeitkinetik der unspezifischen Phagozytoseaktivität von Peritonealmakrophagen der Maus nach 10 maliger oralen Immunisierung mit hitzeinaktivierten S. typhi murium-Bakterien. Die Phagozytoserate steigt langsam an, verläßt am 5. Tag den Normbereich der Kontrollen, erreicht am 26. Tag ihr Maximum und fällt darauf bis zum 36. Tag langsam auf Normwerte ab. Die Wirkung klingt also auch

hier relativ schnell ab, was nicht verwundert. Es ist seit langem bekannt, daß in der Regel die unspezifischen Immunantworten für eine kürzere Zeit positiv bleiben als die spezifischen (29, 30, 36).
Zu vergleichen ist ebenso das erreichte Ausmaß der Aktivitätssteigerung. SCHULZE (35) fand nach unspezifischer oraler, KLUGER (18) nach Inhalationsimpfung einen Phagozytoseindex von maximal 220. Die für Hefeextrakte und Bäckerhefe gefundenen Werte liegen geringfügig darunter, die Bierhefe übertrifft sie und erreicht einen Index von maximal 280. Weshalb diese Unterschiede der Wirkung auftreten, kann nach dem vorliegenden Versuchsaufbau nicht geklärt werden. Es ist anzunehmen, daß die beiden Hefen unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. JONES (17) fand selbst innerhalb der Spezies Saccharomyces cerevisiae eine große Variationsbreite der Zellwandantigene.

Die Hitzeinaktivierung der Bäcker- und Bierhefe blieb ohne Einfluß auf die Phagozytose-steigernden Eigenschaften, die inaktivierten Keime erwiesen sich als genauso wirksam wie die lebenden.
Etwas schlechter war die Wirkung der Fraktionen in Hefeautolysat und -plasmolysat mit einem Phagozytoseindex von maximal 200. Der Unterschied ist jedoch nicht so groß, wie ihn RAETTIG und andere im aktiven Mäuseschutzversuch gefunden hatte, als er die Immunogenität einzelner Fraktionen von Bakterien prüfte. Das Vollantigen war in allen Fällen um mehr als das Doppelte wirksamer als die chemisch gewonnenen Fraktionen (2, 24). Grundlegende Voraussetzung für die Wirksamkeit der oralen Immunisierung ist die Möglichkeit, daß das oral aufgenommene korpuskuläre Präparat durch die Dünndarmwand gelangt und in den Körper aufgenommen wird (RAETTIG 24).
VOLKHEIMER (40) prüfte dieses Phänomen mit den unter-

schiedlichsten Modellkörpern wie PVC - Kügelchen, Lycopodium, Diatomeen, Stärkekörner, Muskelbruchstücke, Parasiteneier, Pflanzenzellen und Hefezellen (Bäckerhefe). Mit konstanter Regelmäßigkeit erschienen Partikel mit einem Durchmesser bis zu 70 Mikron im strömenden Blut. Nach seinem Entdecker nannte er den Übergang von festen ungelösten Partikeln aus dem Darmlumen in den Organismus HERBST - Effekt und spricht von Persorption im Gegensatz zur Resorption gelöster Stoffe. Beim normalen Verdauungsvorgang werden nicht nur gelöste Stoffe resorbiert. Auch feste, ungelöste Nahrungspartikel gelangen in unveränderter Form mit konstanter Regelmäßigkeit in den Organismus. Hierbei werden solche festen Korpuskel aus dem Nahrungsbrei in nachweisbarer Menge durch die Muskeltätigkeit der Darmes in das Stroma der Darmschleimhaut "geknetet". Die Desquamationszonen des Darmepithels sind der Immigrationsort für diese Korpuskel. Aus dem Stroma werden sie durch das Lymphgefäßsystem abtransportiert. Sie gelangen durch den Ductus thoracicus in die Blutbahn (40). RAETTIG und Mitarbeiter konnte dieses Prinzip der Persorption an mehreren Modellen tierexperimentell bestätigen, u.a. mit lebenden und inaktivierten Candida albicans - Keimen (10, 25, 28, 32, 33). Unabhängig von ihrer Größe und weitgehend auch unabhängig von der Keimmenge werden alle Testkeime im Dünndarm persorbiert und erscheinen im strömenden Blut. Die Kinetik dieser Persorption ist für alle Testkeime charakteristisch. Die Normkurve erreicht ihren Höhepunkt zwischen 30 und 60 Minuten nach der Verfütterung der Keime und fällt bis zur 8. Stunde bei den nichtpathogenen Keimen zum Nullpunkt ab (24).
Mit radiomarkiertem, bakteriellem Antigen und T_3-Phagen konnte auch der umgekehrte Weg der Sekretion bewiesen werden (25, 33, 39). Werden diese Testkeime rektal oder intravenös gegeben, so werden sie über die Schleim-

häute der oberen Luftwege und des Magendarmkanals wieder ausgeschieden. Aus Persorption und Sekretion entsteht ein Kreislauf des Antigens, der dem Immunapparat des Impflings Zeit und Gelegenheit gibt, auf das Antigen immunologisch zu reagieren (25, 39). Größere Partikel wie die verwendeten Bäcker- und Bierhefen scheinen in dieser Hinsicht sogar begünstigt zu sein. Sie werden im gleichen Maß persorbiert wie kleinere Keime und fallen den unspezifischen Abwehrmechanismen des Blutes nicht so schnell zum Opfer (33).
Hier sei noch eine eigene Beobachtung erwähnt:
Bei der Auswertung der Präparate von den Tieren, die ganze Hefezellen oral erhalten hatten, fanden sich häufig Makrophagen, die neben phagozytierten Streptokokken in ihrem Zytoplasma auch wesentlich größere Partikel enthielten, die bereits in vivo aufgenommen worden sein könnten. Form und Größe nach könnte es sich um Zellen von Saccharomyces cerevisiae handeln (Abb. 3). Deren Größe wird unterschiedlich angegeben von 7,2 x 5,6 Mikron (31) bis hin zu 10 x 21 Mikron (20). Leider konnte die Identität des Materials wegen der Fixierung der Präparate nicht mehr geklärt werden.

Persorption und Sekretion eines Antigens, Phagozytose durch Makrophagen und deren Aktivierung sind physiologische Prinzipien. Der Weg einer Stimulierung der Makrophagen durch orale Anwendung von Hefe steht auch für den Menschen offen, wenn auch der Beweis hierfür fehlt. Einige der in der Einleitung erwähnten guten prophylaktischen und therapeutischen Wirkungen der Hefe können so eine Erklärung finden.

Es muß offen bleiben, in welchem quantitativen und qualitativen Ausmaß die einzelnen Mechanismen - wie Substitution von Vitaminen, Proteinen und essen-

tiellen Aminosäuren, Einfluß auf die Darmflora im Sinne einer florastabilisierenden Wirkung, direkter Einfluß auf Tumorzellen, zymosanähnliche Wirkung und Aktivierung der Makrophagen - im menschlichen Organismus eine Rolle spielen, oder ob erst ihr Zusammenwirken zu diesen Wirkungen führt.

Für eine orale Behandlung mit Hefe spricht auch die Tatsache, daß sie schon seit Jahrhunderten vom Menschen als Therapeutikum verwendet wird, ohne daß nach bestem Wissen jemals irgendwelche Nebenwirkungen oder Kontraindikationen bekannt wurden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die prophylaktische und therapeutische Bedeutung der Hefe wird an Hand der Literatur beschrieben. Die unspezifische Phagozytoseleistung von Peritonealmakrophagen der Maus wird in vitro direkt geprüft. Nach zehnmaliger oraler Immunisierung mit Hefe befinden sich die Makrophagen in aktiviertem Zustand. Hefeextrakte und Bäckerhefe führen zu einer Verdoppelung, Bierhefe zu einer Verdreifachung des Phagozytoseindex. Die Ergebnisse werden diskutiert.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Adam, D., Schaffert, W., Marget, W.
Enhanced In Vitro Phagocytosis of Listeria monocytogenes by Human Monocytes in the Presence of Ampicillin, Tetracycline, and Chloramphenicol
Infect. Immun. 9, 811 (1974)

2. Birnschein, E., Herrmann, R., Kolb, H.J., Brehmer, W., Raettig, H.
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 15. Mitt.: Immunogenität von Fraktionen der S.typhi murium Bakterien im Mäuseschutzversuch
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 222, 314 (1972)

3. Buschmann, H., Preuss, W.
Methoden und Erfahrungen bei der Prüfung von resistenzfördernden Präparaten
Z. Immun. Forschung 136, 457 (1968)

4. Charatjan, S., Wolnowa, A.
Biological Value of the Biomass and Protein Isolates from Different Yeasts
Nahrung 19, 885 (1975)

5. Christmann, W.
Gleichzeitige Gabe eines Breitbandantibiotikums und Hefepräparates
Ärztl. Praxis 13 (1967)
zit. nach (13)

6. Donat, F.
Prophylaxe intestinaler Antibiotika - Nebenwirkungen
Münch. med. Wschr. 2 (1970)
zit. nach (13)

7. Erlandson, A.
The Induction of Nonspecific Resistance in Mice by Papain
J. infect. Dis. 116, 297 (1966)

8. Fardon, J. et al.
The Effect of a Yeast Extract (PCO) on the Mitotic Activity of Neoplastic and Normal Cells in Vitro
J. Surg. Oncol. 5, 307 (1973)

9. Fitzpatrick, F., DiCarlo, F.
Zymosan
Ann. N.Y. Acad. Sci. 118, 233 (1964)

10. Funk, J.
Tierversuche zur oralen Impfung mit hitzeinaktivierten Fungi (Candida albicans)
Inaug. Diss. Berlin 1969

11. Gedek, B.
The Action of the Yeast Preperation Perenterol
Münch. med. Wschr. 117, 97 (1975)

12. Gervais, C.
Profitable Effect of a Lactic Yeast in Nutrient Deficient Biafran Children
Bull. Soc. Pathol. Exat. 66, 445 (1973)

13. Götz, G. — Prophylaktische und therapeutische Möglichkeiten mit dem Hefepräparat Perenterol bei der Colitis ulcerosa. Zschr. Allgemeinmed. 46, 1312 (1970)

14. Großgebauer, K. — Antagonistische Phänomene zwischen Viren und Bakterien. Arch. Hyg. (Berlin) 151, 146 (1967)

15. Großgebauer, K., Haettig, H., Langmaack, H., Küchler, R. — Zur unspezifischen Schutzwirkung von Lysozym und Aristolochiasäure bei bakteriellen und viralen Infektionen. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 215, 401 (1970)

16. Ireson, J., Conway, C., Schwarzenbach, F. — The Effect of a Complex Yeast Preparation, as a Food Supplement, on the Growth of Ehrlich's Ascites Tumor in Mice. Eur. J. Cancer 8, 159 (1972)

17. Jones, C., Stewart-Tull, D. — Antigenic Analysis of Yeast Cell-Walls. Sabouraudis 13, 94 (1975)

18. Kluger, E. — Einfluß der Inhalationsimpfung auf die Phagozytosefähigkeit von Alveolarmakrophagen der Maus. Inaug. Diss. Berlin 1975

19. Linke, Th., Hahn, H. — Träger der Infektabwehr: der aktivierte Makrophage. Die gelben Hefte 16, 122 (1976)

20. Lodder, J. — The Yeasts - A Taxonomic Study
North-Holland Publishing Co.1970

21. Mackaness, G. — The Mechanism of Macrophage Activation
Infect. Agents and Host React.
61 (1970)

22. Mandrella, C. — Erfolgreicher Behandlungsversuch der Akne mit einem neuartigen Hefepräparat
Heilkunst 86, 48 (1973)

23. Ortlieb, R. — Randomisierte Vergleichsprüfung eines neuen Medikamentes bei kindlichen Darmstörungen
Ther. d. Gegenw. 113, 76 (1974)

24. Raettig, H. — Die orale Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen. Zehn Jahre Forschungsarbeit im Robert Koch-Institut
Bundesgesundheitsblatt 11, 141 (1971)

25. Raettig, H. — Neues zur Wirkungsweise der oralen Immunisierung
Wiener med. Wschr. 115, 33 (1965)

26. Raettig, H. — Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 3. Mitt.: Dosierung und Impfrhythmus
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig.
A 203, 478 (1967)

27. Raettig, H. — Phagozytose und das System immunkompetenter Zellen Therapiewoche 45, 6756 (1975)

28. Raettig, H. — Tierexperimente zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 191, 97 (1965)

29 Raettig, H. — Zur Immunprophylaxe der Salmonellosen Moderne Therapie 5, 6 (1976)

30. Raettig, H., — Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 16. Mitt.: Zeitkinetik des Impfschutzes Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 225, 263 (1973)

31. Kautzmann, R., Lindemann, M. — I. Die Hefen II. Technologie der Hefen Verlag Haus Carl Nürnberg 1966

Schlewinski, E. — Bakteriämie nach enteraler Persorption von Staphylokokken und vergleichende lokale Immunisierung mit inaktiviertem Antigen Inaug. Diss. Berlin 1970

33. Schlewinski, E., Graben, N., Funk, J., Sahm, E., Raettig, H. — Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 13. Mitt.: Persorption und Sekretion von Mikroorganismen im Tierversuch Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 218, 93 (1971)

34. Schülein, J. — Die Bierhefe als Heil-, Nähr- und Futtermittel
Dresden und Leipzig 1938

35. Schulze, H.-J. — Einfluß der oralen Immunisierung auf die Phagozytosefähigkeit von Peritonealmakrophagen der Maus
Inaug. Diss. Berlin 1972

36. Schulze, H.-J.
Jaschinski, Ch.,
Raettig, H. — Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 17. Mitt.: Zeitkinetik der unspezifischen Phagozytoseaktivität von Peritonealmakrophagen
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 225, 273 (1973)

37. Shilo, M. — Nonspecific Resistance to Infections
Ann. Rev. Microbiol. 13, 255 (1957)

38. Sinai, Y.,
Kaplun, A.,
Hai, Y.,
Halpern, B. — Enhancement of Resistance to Infectious Diseases by Oral Administration of Brewer's Yeast
Infect. Immun. 9, 781 (1974)

39. Uecker, W.,
Meves, M.,
Raettig, H. — Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 6. Mitt.: Tierversuche zur Resorption und Sekretion von radiomarkiertem, bakteriellem Antigen
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 208, 2 (1968)

40. Volkheimer, G. Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für großkorpuskuläre Elemente
Z. Gastroent. 2, 57 (1964)

41. Vorlaender, K. Immunabwehr und ihre Störungen
Die gelben Hefte 16, 156 (1976)

42. Welsch, M. Zur Vorbeugung postantibiotischer Superinfektionen durch Mikrobiotherapie
Rev. Méd. Liège 9 (1959)
zit. nach (13)

Zum Schluß danke ich Herrn Prof. Dr. Raettig für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung während der Arbeit. Fräulein Jacobi danke ich für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche und der Herstellung der graphischen Darstellungen. Herrn Dr. Wermann danke ich für seine Mühe mit den Aufnahmen der mikroskopischen Präparate und Herrn Dr. Brechte für seine Beratung bei der statistischen Auswertung.

LEBENSLAUF

Am 25. Jan. 1951 wurde ich, Johann Christian Michael Schmidt, als Sohn von Dr.med. Christian Ulrich Schmidt und seiner Frau Bertha Schmidt, geb. Neukamm, in Berlin - Nikolassee geboren.

Von 1957 bis 1963 besuchte ich die Grundschule und ging anschließend auf die altsprachliche Schadow - Schule in Berlin - Zehlendorf. Vom Sommer 1967 ab besuchte ich für ein Jahr als Austauschschüler die Horace Mann School in New York City, N.Y.. Wieder zurück bestand ich im Jan. 1970 das Abitur.

Im selben Jahr begann ich mit dem Medizinstudium an der Freien Universität Berlin und schloß es im Aug. 1976 mit dem Staatsexamen ab.

Am 1. Sept. 1976 trat ich meine erste Medizinalassistentenstelle im Robert Koch - Institut in Berlin an.